中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）46(4)：314～323（1997）

利用 RAPD 分子標誌估測番椒屬種原遺傳歧異性之研究[1]

王昭月　范明仁　羅舜芳[2]

摘要：本試驗以蒐集之番椒屬（*Capsicum*）44個種原，含5個馴化栽培種（*C. annuum*，*C. baccatun*，*C. chinense*，*C. frutescens*，*C. pubescens*）與3個野生種（*C. chacoense*，*C. praetermissum*，*C. eximiun*），探討利用逢機增殖多型性 DNA（RAPD）標誌，進行「種」的鑑別與遺傳歧異性之研究。試驗結果，以 UBC327，UBC346，UBC457，UBC483，UBC484，等五個逢機引子，經聚合酵素連鎖反應（PCR），其 RAPD 產物具有明顯的多型性表現，可用以區別5個馴化栽培種。將上述所有多型性的 DNA 片段一併進行 Neighbour Joining method 群集分析，結果44個品系可分成六群：第一群有7品系，主要為 *C. chinense*；第二群有7品系，含 *C. praetermissum*、*C. eximium* 與 *C. pubescens*；第三群有3品系，主要為 *C. chacoense*；第四群包含所有的 *C. baccatum*；第五群主要包含所有的 *C. frutescens*；第六群則主要包含全部之 *C. annuum*。試驗結果顯示利用 RAPD 標誌之分析，可與「種」為基礎之分類吻合。

關鍵詞：逢機增殖多型性 DNA、遺傳歧異性、番椒。

前　言

植物育種專利（Plant Breeding Right, PBR）推行以來，除積極保障育種研究人員在優良品種選育上的成果外，對於有用遺傳資源的引種或品種鑑定，亦已日益凸顯重要性。但傳統上利用植株形態分類，有時仍無法達到完全區分品種的目的，而且往往要種植至成株始可進行性狀判別。鑑於此，國際種子檢查協會 ISTA（International Seed Testin Association）已利用生化電泳分析，達到快速、正確檢測品種的目的，其中酵素電泳分析或 RFLP（Restriction Fragment Length Polymophism）均已正式被利用，成為種原鑑定工具[7]。但以 RFLP 進行品種鑑定雖具有高度的正確性及信賴度，唯試驗操作上技術性高且繁瑣，其中還包含使用放射性標誌之危險性，同時在人力與物力投資花費均甚高[15]。而利用酵素電泳分析（如 isozyme），能提供作遺傳標誌的基因座數目較有限，且酵素表現易受栽培環境影響，故自1990年代 Welsh [16]及 William [17]等人提出操作簡單的 RAPD 技術，而後短短六～七年間已有水稻[10]、十字花科蔬菜[6,7]、根莖類作物[4]及桃[3]等多數作物種原鑑別，或特定基因分析研究報告提出。以分子層次的種原鑑定可深入探討種原親緣關係及遺傳背景，獲得遺傳連鎖圖等相關資料，提供育種材料更詳盡之評估，與具有提昇育種效益功能。此外，藉由基因層次之種原歧性分析（genetic diversity），可以評估不同來源地方種原之遺傳差異性[4,14]

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1916 號。
2. 本所作物種原室助理研究員、研究員兼主任及約僱技術員。臺灣省　臺灣縣　霧峰鄉。

，反應其蘊含之遺傳資源豐富與否，提供研究人員進行引種材料選擇時，有更詳細之背景參考資料，促進未來利用之效益。

番椒（pepper, paprika chili, chile）是茄科（Solanaceae）番椒屬（*Capsicum*）一或多年生蔬菜，原產於中、南美洲（如：玻利維亞、巴西、巴拉圭等，爲其起源的核心地帶）[5]，據 FAO 1993年調查，全世界有1,224,000公頃的栽培面積，其中亞洲地區就占56.5%，因此也是亞洲重要經濟蔬菜之一。番椒果實依辣味有無可分爲二類：有辣味類（pungent），俗稱爲辣椒（hot pepper, chile pepper, chili pepper）；無辣味類（nonpungent）俗稱甜椒（bell, sweet pepper）。番椒屬內花色、果型歧異性很大，故早期「種」的分類很紊亂。曾以花色分成二大群：紫花、白花群；也有依果型特徵或一、多年生栽培習性而分類的。至目前較廣爲接受的番椒分類，係 McLood 等人（1983）依據植物形態及酵素電泳分析（isozyme electrophoresis）參考歸納的結果[8]，可歸納爲20～30個野生種及 5 個馴化栽培種，其中五個馴化栽培種爲：*C. annuum*（包含全部甜椒品種及大部分辣椒商業品種：New Mexican，Jalapeno，Bell 等）；*C. chinense* Jacqin（辣椒，Habaneros），*C. frutescens* L.（辣椒，Tabascos），*C. baccatum* L.（辣椒，Ajis），及 *C. pubeseens* Ruiz & Pavon，（辣椒，Roctos）。此五個馴化種皆爲人類重要經濟栽培種，前三種更幾乎囊括了全球性主要的經濟栽培品種。五個馴化種中除了 *C. pubescens* 有黑色種子，*C. baccatum* 花冠基部有散漫黃斑，較易辨認外；其餘 *C. annuum*、*C. chinense* 及 *C. frutenscens* 三者則不容易自植株花器或果實特性加以分類，必須以染色體鏡檢，或進行雜交親合力檢定等方式，才能清楚的鑑別不同馴化種。[5,11,12,13]

本省位於番椒主產區的亞洲地帶，故亞洲蔬菜研究發展中心（Asian Vegetable Research & Development Center, AVRDC）多年來針對此一重要蔬菜，積極自世界各地進行種原蒐集與保存，目前該中心內番椒種原已近6,000品系，引種地區包含78個國家，並以五個馴化栽培種爲主。而我國爲因應未來國際間種原保育與利用上之重要性，特於1993年在臺灣省農業試驗所內成立國家作物種原中心，負責本省之作物種原之蒐集與保存，對番椒此一重要蔬菜作物已逐年進行備份保存，目前入庫之番椒種原已達1,000品系以上。本研究目的即自其中取得部分代表性種原，期以快速有效的 RAPD 分析方式，評估種原歧異性，並藉由分子標誌之篩選，利用於「種」的分類與特性鑑別，以達到更詳盡之種原鑑別與種原資料之建立，俾對於新蒐集或引進種原之評估有所助益，提高作物遺傳資源之應用。

材料與方法

一、植物材料

取自亞洲蔬菜研究發展中心蒐集番椒屬44個品係，來源包括來自：玻利維亞、墨西哥、巴西，和哥斯達黎加等14個國家（表 1），包括 *C. annuum*、*C. baccatum*、*C. chinense*、*C. frutescens* 及 *C. pubescens* 等五個經濟栽培之馴化種；以及三個野生種：*C. chacoense*、*C. praetermissum*、*C. eximium*。

二、DNA 萃取

取植株嫩葉0.3公克放入1.5ml 已滅菌的小離心管，加入液態氮磨碎，後加入 500μl DNA 萃取緩衝液（2%(w/v) CTAB；100mM Tris-HCl，pH8.0；20 mM EDTA；1.4M NaCl；0.2%mg(v/v) β-mercaptoethenol），再放入60°C水浴30分鐘，輕輕混勻後加入500μl chloroform-isoamyl alcohol（24：1，v/v）再輕輕混勻。以20°C，14,000rpm 離心10分鐘（SIGMA 2K15，rotor 12145）。再取上清液加入300μl 之冰冷 isopropanol，混合均勻後放置在室溫下沉澱 1～2 小時（或－20°C，隔夜）。再於4°C，14,000rpm 離心10分鐘。小心倒掉上清液，再加入1ml 的 washing buffer

表 1. 進行 RAPD 分析之番椒種原基本資料

Table 1. Plant introduction passport data of *Capsicum* used for RAPD analysis.

Order number	P.I. no.	Species	Country of origin	Cultivar (name)
1	C03877	*C. annuum*	Mexico	Carizo
2	C04908	*C. annuum*	Honduras	
3	C02283	*C. annuum*	Mexico	
4	C04922	*C. annuum*	Guatemala	
5	C03865	*C. annuum*	Mexico	Habanero
6	C03862	*C. annuum*	Mexico	Dulce
7	C03866	*C. annuum*	Mexico	Dulce
8	C	*C. annuum*	USA	Yulo Wonder
9	C	*C. annuum*	USA	Ruby King
10	C	*C. annuum*	USA	California King
11	C	*C. annuum*	USA	California Wonder
12	C00302	*C. baccatum*	Peru	
13	C04165	*C. baccatum*	Brazil	Pimenta
14	C04167	*C. baccatum*	Brazil	Pimenta Wild
15	C00044	*C. baccatum*		
16	C04279	*C. baccatum*	Brazil	Pimenta Pitonga
17	C04170	*C. baccatum*	Brazil	
18	C04190	*C. baccatum*	Brazil	
19	C04326	*C. baccatum*	Brazil	
20	C04280	*C. baccatum*	Brazil	
21	C04281	*C. baccatum*	Brazil	
22	C00970	*C. chinense*	England	Habanero Rojo
23	C03870	*C. chinense*	Mexico	Habanero Rojo
24	C03879	*C. chinense*	Mexico	Habanero Amarillo
25	C03848	*C. chinense*	Belize	Habanero Rojo
26	C03873	*C. chinense*	Mexico	Habanero
27	C04701	*C. chinense*	Brazil	
28	C01367	*C. frutescens*	Costa Rica	Chile Dicantf
29	C01602	*C. frutescens*	Honduras	
30	C04847	*C. frutescens*	Costa Rica	
31	C01706	*C. frutescens*	El salvador	
32	C04843	*C. frutescens*	Costa Rica	
33	C04394	*C. chacoense*	Bolivia	
34	C01554	*C. chacoense*	England	
35	C00572	*C. chacoense*	Agentina	
36	C00850	*C. pubescens*	USA	
37	C01608	*C. pubescens*	Germany	
38	C04897	*C. pubescens*	Ecuador	
39	C00950	*C. praetermissum*	England	
40	C01329	*C. praetermissum*	England	
41	C01330	*C. praetermissum*	England	
42	C01426	*C. eximum*	England	
43	C00951	*C. eximum*	England	
44	C01331	*C. eximum*	England	

(76% ethanol (v/v)；10mM ammonium acetate) 輕輕混勻後，再於4°C下以14,000rpm 離心10分鐘。再倒掉上清液，將沉澱的 DNA 置於無菌操作臺風乾。風乾的 DNA 溶於 50μl 的無菌水再加入 RNaseA (10μg/ml) 在37°C下反應20分鐘。最後取 10μl 的 DNA 溶液，稀釋100倍並測定 OD 260nm 之讀值，及計算 DNA 含量濃度。

三、聚合酵素連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction，PCR) 與電泳

將萃取得之 genomic DNA 先稀釋成 5ng/μl 放置在−20°C下，提供聚合酵素連鎖反應時，作爲模板 DNA (template DNA) 。另外利用10個核甘酸序列的隨意引子300種 (UBC RAPD primer set：100/4及100/5 200種；Operon KitA：AO、AP、AQ、AR、AS 100種) ，並由先前 PCR反應產物中篩選出多型性 DNA 片段明顯的引子 6 個[1]：UBC313，UBC327，UBC346，UBC441，UBC457，UBC484，進行聚合酵素連鎖反應。反應時採用 0.5ml 已滅菌的小離心管進行，反應液參考 Oard 及 Dronavalli (1992) ，反應總體積爲25μl，內含 1 U Taq polymerase (Promega) 、1×PCR buffer (50 mMKCl；10mM Tris-HCl，pH9.0；0.1% Triton 100) 、2.5mM $MgCl_2$、200 μM dNTP、0.2 μM primer 及 25ng template DNA。聚合酵素連鎖反應儀器爲 Perkin Elmer Cetus Thermal Cycler480，反應溫度條件設定如下：1 次 (cycle) ：94°C，3 分鐘→42°C，1 分鐘→72°C，1 分鐘；39次 (cycles) ：94°C，1 分鐘→42°C，1 分鐘→72°C，2 分鐘。反應完成時自動保存在4°C。

經聚合酵素連鎖反應而增殖之 DNA，取12μl 加入 6 倍的電泳緩衝液 (6×loading buffer：0.25%bromophenol blue 及 xylene cyanol，40% w/v sucrose) ，以 2 %的 agarose 在 TAE buffer (40 mM Trisacetate，pH8.0；1 mMEDTA) 中進行 DNA 電泳。電泳槽係採用 Cosmo 生產 Mupid-2，電壓設定100伏特，電泳時間約25分鐘，結束後置於0.5mg/ml 的 ethidium bromide 中染色 20—30分鐘，再置於 UV 光箱中，檢視 agarose 膠體上 DNA 多型性片段，並照相及貯存影像於 IS500 Digital Imaging System (Alpha Innotech Corporation) 進行分析。

四、資料分析

群集分析是採用 Gel-Compar 軟體，計算兩品系間所有分析的 RAPD 條帶中相同條帶的比率。所有樣品兩兩分析後，以 Dice's 之 Neighbour Joining 法估算相似性程度[11]。RAPD 產物的 DNA 片段係以 φ174/HaeIII 作爲估算分子量。Dice's 相似性係數值的計算方式爲 $F=2nxy/nx+ny$。nx 及 ny 分別代表X及Y品系的所有多型性 DNA 片段，nxy 則表示X及Y品系間都共有的片段數 (simple matching coefficient，Nei & Li 1979) 。以上係於 Digital 個人電腦中以 Gel-Compar 軟體進行分析。

結　果

一、「種」鑑別之特定 RAPD 片段篩檢

逢機引子300種經由 PCR 反應產物中，篩選出多型性 DNA 片段表現明顯的引子 5 個 (表 2) ：UBC327，UBC346，UBC457，UBC483，UBC484，[1]，以此進行番椒屬44個種原之 RAPD 分所。結果以 UBC327 (圖 1) 、UBC346 (圖 2) 及UBC457 (圖 3) 三個引子進行之 PCR 反應，在 *C. annuum*，*C. baccatum* 及 *C. chinenese*，*C. frutescens*，*C. pubescens*，五個馴化種間，均可產生具辨識效用之多型 DNA 片段。以 UBC327 引子經 PCR 反應，所產生多型性 DNA 片段產物中，獲得 3 個可用於識別不同「種」的 DNA 片段 (圖 1 ，表 3) ，其中2,749 bp 片段均存在於 *C. chinense* 種內；942*bp* 片段在 *C. baccatum* 及 *C. pubescens* 種內存在；420*bp* 片段只存在於 *C. annuum* 種內。由 UBC346 引子之反應產物中獲得 4 個多型性 DNA 片段：1,356bp 及 1,232bp 二片段可用於標誌 (圖 2 、表 3) ：1,135bp 存在於 *C. chinense* 種內；1,021bp 則僅存在於 *C.*

frutescens 種內。由 UBC457 引子經 PCR 反應產物中，可獲得 3 個 RAPD 標誌片段，其中 564bp 片段僅在 *C. baccatum* 種內存在，420bp 僅存在 *C. chinense*；294bp 則僅存在 *C. annuum* 種內。（圖 3 、表 3）

表 2. 以 RAPD 爲番椒馴化種鑑別之引子

Table 2. Primers used for RAPD analysis and discrimination of *Capsicum*

Primer	Sequence
UBC327	5'ATACGGCGTC3'
UBC346	5'TAGGCGAACG3'
UBC441	5'CTGCGTTCTT3'
UBC457	5'CGACGCCCTG3'
UBC483	5'GCACTAAGAC3'
UBC484	5'CTGGCAAGGA3'

表 3. 以 RAPD 特定分子片段標誌番椒屬之不同馴化栽培種

Table 3. Screening RAPD markers within domesticated species of *Capsicum*.

Primer	Polymorphic DNA marker	*C. annuum*	*C. baccatum*	*C. chinense*	*C. frutescens*	*C. pubescen*
UBC327	2749 bp			+		
	942 bp		+			+
	420 bp	+				
UBC 346	1353 bp		+			
	1232 bp		+			
	1135 bp			+		
UBC 457	1021 bp				+	
	564 bp		+			
	420 bp			+		
	294 bp	+				

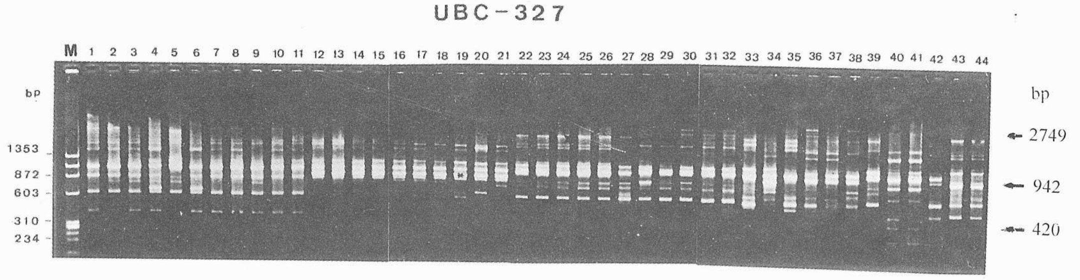

圖 1. 番椒屬44品系（如表 1），以 UBC 327 爲引子之 RAPD 圖譜

Fig. 1. RAPD profiles generated by primer UBC327 and resolved by 2.0%agarose gel. Numbers on top refer to the accessions listed in Table 1.

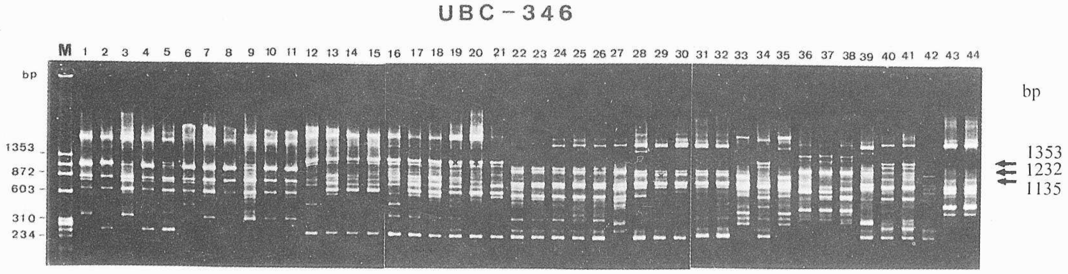

圖 2. 番椒屬44品系（如表1），以 UBC 346 爲引子之 RAPD 圖譜

Fig. 2. RAPD profiles generated by primer UBC346 and resolved by 2.0%agarose gel. Numbers on top refer to the accessions listed in Table 1.

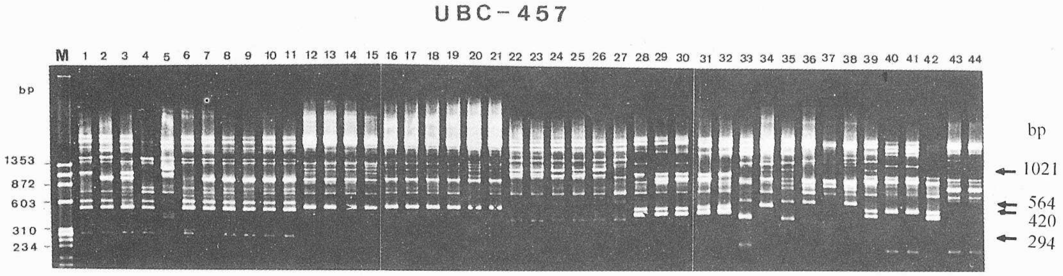

圖 3. 番椒屬44品系（如表1），以 UBC 457 爲引子之 RAPD 圖譜

Fig. 3. RAPD profiles generated by primer UBC457 and resolved by 2.0%agarose gel. Numbers on top refer to the accessions listed in Table 1.

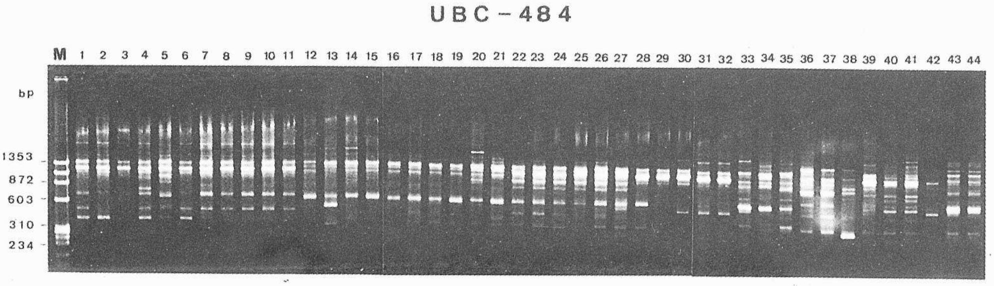

圖 4. 番椒屬44品系（如表1），以 UBC 484 爲引子之 RAPD 圖譜

Fig. 4. RAPD profiles generated by primer UBC484 and resolved by 2.0%agarose gel. Numbers on top refer to the accessions listed in Table 1.

二、遺傳歧異性估測與 RAPD 分析

將 UBC327、UBC346、UBC457、UBC483 及 UBC484 五個引子，經 PCR 反應之所有 RAPD 多型性片段，以 Dice's 相似性係數進行 Neighbour Joining method 群集分析，再據以繪製44個品系間之群集樹狀圖，結果顯示44個品系主要可分成六群（圖5）。第一群有7品系，主要爲6個 *C. chinense* 品系（C03865，C03879，C03848，C00970，C03870，C03873），及 *C. chacoense* 1品系（C01554）。第二群有7品系，含 *C. praetermissum*（C01329，C01330）、*C. eximium*（C0951

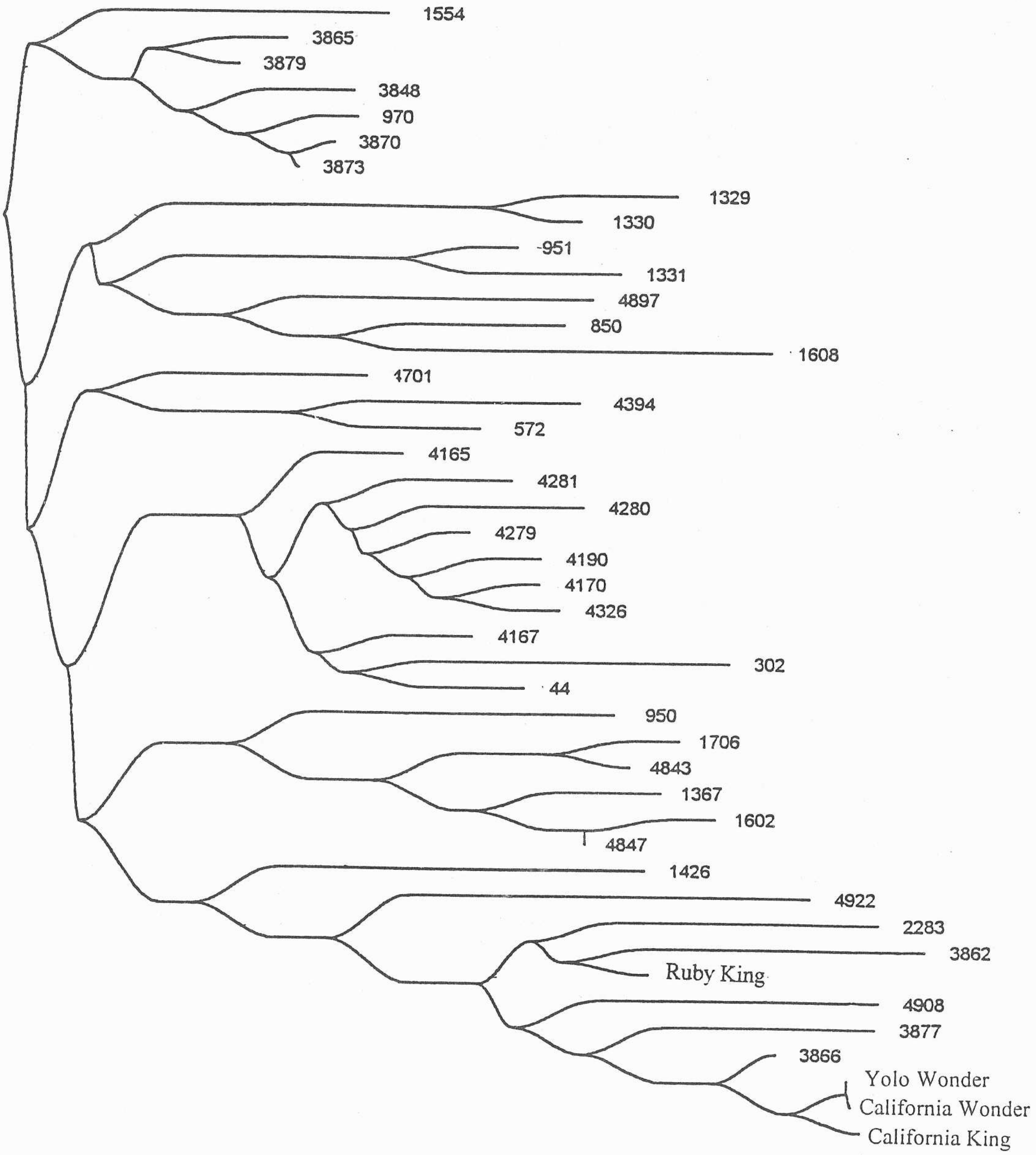

圖 5. 番椒屬44品系之 RAPD 圖譜，經 Dice' s 計算之 NJ 樹狀圖

Fig. 5. Dendrogram of 44 pe pper accessions, constructed by Neighbour Joining method based on Dice' s similarity coefficients.

，C01331）與 *C. pubescens*（C04897，C00850，C01608）。第三群有 3 品系，主要爲 *C. chacoense* 2 品系（C04394，C00572），及 *C. chinense* 1 品系（C04701）。第四群有10品系，包含所有的 *C. baccatum* 10品系（C04165，C04281，C04280，C04279，C04190，C04170，C04326，C04167，C00302，C00044）。第五群有 6 品系，主要包含所有的 *C. frutescens* 5 品系（C01706，C04843，C01367，C01602，C04847），及 *C. praeetermissum* 1 品系（C00950）。第六群有11品系，主要包含全部 *C. annuum* 10品系（C04922，C02283，C03862，Ruby King, C04908，C03877，C03866，Yulo Wonder, California Wonder, California King），及*C. eximium* 1 品系（C04922）。（圖 5）

討　論

本研究延續過去以 RAPD 分子標誌用於番椒品種鑑定所篩選獲得之引子，並擴展研究材料包含番椒屬內五個馴化栽培種及部份野生種原，結果發現，這些品系經進行 RAPD 分析，也會將屬於同一馴化種的品系集合成一群。而供試八個種中除 *C. annuum* 含有不帶辣味的樣品外，其餘皆爲辣椒，故 *C. annuum* 明顯有自成一群的情形，但其中甜椒類也有聚集趨勢，辣椒類亦然，此群集現象或許與果型大小及辣味表現具有相關性。故 RAPD 分析對於「種」的演化或分類，應爲可用以評估的方式之一。

本試驗發現 RAPD 分析中，除可獲得遺傳相似性以評估種原歧異性外，藉由 RAPD 產物中亦可篩選出不同「種」間相異且特有的 DNA 片段之存在。如本研究中，引子 UBC327 經 PCR 反應，產物中 2,749bp 片段可以作爲鑑別 *C. chinense* 的特有條帶（圖 1，表 3）；420bp 片段則可作爲鑑別 *C. annuum* 的特有條帶（圖 1，表 3），而引子 UBC 346 反應產物中，1,356bp 的 RAPD 片段爲 *C. baccatum* 特有，1,135bp 爲 *C. chinense*所特有，1,021bp 則是 *C. frutescens* 所特有之片段（圖 2，表 3）。而且這些用以標誌「種」的部分片段，經作者二～三年度間取同「種」內之不同的樣品不斷的偵測，其特有的標誌片段，仍可一再的重覆出現，如 UBC327 中用以鑑別 *C. annuum* 的420bp 片段，及用以鑑別 *C. baccatum* 的2,749bp 片段均可穩定一再重現，此也驗證 RAPD 分析對於種原鑑別上的正確與效益。唯不管是利用特有的 RAPD 標誌片段，或是將所有的 RAPD 片段全部分析，對於未知的樣品應具有估測可能屬於何「種」之能力。以本試驗內 C03865 品系原先在入庫基本資料係註明爲 *C. annuum*，但在 RAPD 分析結果則與 *C. chinense* 連鎖於同一群內，是爲一個令人疑惑的樣品，經再查證其譜系名稱（或俗名），竟爲 Habanero，此即早期對*C. chinense* 內一群辣椒通稱的俗名，故應爲種別資料登記時的錯誤，此也再次印證了 RAPD 的分析方式對於番椒「種」的鑑別能力，故未來如能進一步繼續朝向正確、穩定的目標，推及至本省其他豐富或複雜的亞熱帶作物種原鑑定，將是建立種原管理及背景資料上的一項有利工具。

誌　謝

本試驗承蒙行政院農業委員會86科技—1.5—糧—06經費補助，及亞洲蔬菜研究發展中心提供番椒種原種子，謹致謝忱。

引用文獻

1. 王昭月。1995。同功異構酵素與逢機增殖多型性 DNA 標誌在番椒品種鑑別之研究。國立中興大學碩士論文。
2. 王昭月、范明仁、羅舜芳、劉新裕。1996。以逢機增殖多型性 DNA 標誌鑑別番椒屬野生馴化種原。中華農業研究45(4)：370-381。
3. Chaparro J. X., D. J. Werner, D. O' Malley, R.R. Sederoff. 1994. Targeted mapping and linkage analysis

of morphological isozyme, and RAPD markers in peach. Theor. Appl. Genet. 87 : 805-815.
4. Demeke, T., D. T. R. Lynch, L. M. Kawchuk, G. C. Kozub, and J. D. Armstrong. 1996. Genetic diversity of potato determined by random amplified polymorphic DNA analysis. Plant Cell Reports 15 : 662-667.
5. De. Witt Dave and Paul W. Bosland. 1993. The Pepper Garden, pp 1~21 Speed Press. Berkeley, California.
6. Kresovich, S., J. G. K. Williams, J. R. McFerson, E. J. Routman, and B. A. Schaal. 1992. Characterization of genetic identities and relationships of *Brassica oleracea* L. via a random amplified polymorphic DNA assay. Theor. Appl. Genet. 85 ; 190-196.
7. Mailer, R. J., R. Scarth and B. Fristensky. 1994. Discrimination among cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.) using DNA polymorphisms amplified from arbitrary primers Theor. Appl. Genet. 87 : 697-704.
8. McLeod, M.J., S.I. Guttman and W. H. Eshbaugh. 1983. Peppers. pp. 189-202 In : S.D. Tanksley and J. J. Orton (eds.) Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Part B. Elsvier, Amsterdam.
9. Nei, M. and W. H. Li. 1979. Methematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Soc. U.S.A. 76 : 5269-5273.
10. Oard, J. H. and S. Dronavalli. 1992. Rapid isolation of rice and maize DNA for analysis by random-primer PCR. Plant Mol. Bio. Rep. 10:236-241.
11. Pickersgill, B. 1969. The domestication of chili peppers. pp. 443-450. In : The Domestication and Explotitation of Plants and Animals. P. J. Ucko and T. W. Dimbleby (eds.). Duckworth Press Ltd., London.
12. Pickersgill, B. 1977. Chromosomes and evolution in *Capsicum.* In *Capsicum* 77. Edited by E. Pochard. INRA Montfaver-Avignon, France.
13. Pickersgill, B. 1988. The genus *Capsicum* : a multidisciplinary approach to the taxonomy of cultivated and wild plants Biol Zentralbl. 107 : 381-389
14. Prince. J. R., Loaiza-Figueroa, F., and Tanksley, S.D. 1992. Restriction fragment length polymorphism and genetic distance among Mexican accessions of pepper. Genome, 35 : 726-732.
15. Thormann, C. E., M. E. Ferreira, L. E. A. Camargo, J. G. Tivang and T. C. Osborn. 1994. Comparison of RFLP and RAPD markers to estimating genetic relationships within and among cruciferous species. Theor. Appl. Genet. 88 : 973-980.
16. Welsh, J. and M. McClelland. 1991. Genomic fingerprinting using arbitrary primer PCR and a matrix of pairwise combinations of primers. Nucleic Acid Res. 19 : 5275-5279 •
17. Williams, J. G., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acid Res. 18 : 6531-6535.

Genetic Diversity within *Capsicum* Evaluated by Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD) Markers[1]

Jau-Jueh Wang, Ming-Jen Fan and Shen-Fang Lo[2]

Summary

A total of 44 collections of pepper (*Capsicum*.spp.) germplasm, including five domesticated species (*C. annuum, C. baccatum, C. chinense, C. frutescens, C. pubescens*), and three wild species (*C. chacoense, C. praetermissum, C. eximum*),were evaluated using random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker. Objectives were to assess genetic diversity within the germplasm of *Capsicum* and survey the identification markers. The results indicated that high degree of polymorphism was obtained from five random decamer primers (UBC327, UBC346, UBC457, UBC483, and UBC484) which produced 172 RAPD bands, and within them ten efficient fragments useful for identification among five domesticated species had been screened. Analysis of similarity by NJ (Neighbour Joining method) revealed these 44 accessions could be divided into six groups : the first group contained seven accessions that including all the samples of *C. chinense* ; the second group was composed of seven accessions, including the species of *C. praetermissum, C. pubescen* and *C. eximum* ; the third group contained three accessions belonging to *C. chacoense* ; , the fourth group contained all the samples of *C. baccatum* ; the fifth group contained all the samples of *C. frutescens* ; , and the sixth group contained all the samples of *C. annuum*. The results showed that the clusters assorted by RAPD markers could be corresponded to species -based classification.

Key words : Random amplified polymorphic DNA (RAPD), Genetic diversity, Pepper (*Capsicum* spp.)

1. Contribution No. 1916 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Respectively, Assistant Agronomist, Senior Agronomist and Research Assistant, Crop Genetic Resources Laboratory, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.